

KARAKTERISTIK *Staphylococcus aureus* YANG DI ISOLASI DARI IKAN ASAP PINEKUHE HASIL OLAHAN TRADISIONAL KABUPATEN SANGIHE

Characteristics of Staphylococcus aureus Isolated Smoked Fish Pinekuhe from Traditionally Processed from Sangihe District

Ely John Karimela*, Frans G. Ijong, Henny Adeleida Dien

Program Studi Magister Ilmu Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Jalan Kampus Unsrat Bahu-Kleak, Pascasarjana Ged.B. PS. IPA Manado, Sulawesi Utara 95115.

Telepon (0431) 827441, 827240; Faks: (0431) 821212

*Korespondensi: karimelaelyjohn@gmail.com

Diterima: 27 Februari 2017/ Disetujui: 15 April 2017

Cara sitasi: Karimela EJ, Ijong FG, Dien HA. 2017. Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di isolasi dari ikan asap pinekuhe hasil olahan tradisional Kabupaten Sangihe. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1): 188-198.

Abstrak

Pinekuhe adalah nama lokal atau sebutan untuk produk ikan layang asap *Decapterus* sp., yang merupakan produk olahan tradisional dari pulau Sangihe yang memiliki rasa dan aroma asap yang khas serta bentuk yang unik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik fisiologis dan biokimia, serta patogenitas isolat *S. aureus* yang diisolasi dari produk ikan layang (*Decapterus russellii*) asap Pinekuhe hasil olahan nelayan Kabupaten Sangihe. Isolat yang terkumpul pada penelitian ini yaitu 111 hasil isolasi dari ikan asap Pinekuhe yang ditumbuhkan pada media MSA. Isolat telah melalui uji fisiologis meliputi, uji pewarnaan gram, dan uji biokimia yaitu uji Katalase, Voges-Proskauer, serta fermentasi karbohidrat (manitol dan glukosa). Karakteristik patogenitas *S. aureus* dilakukan menggunakan uji koagulase, produksi nuklease thermostabil dan DNase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 111 isolat galur yang terkumpul, terdiri dari 108 isolat *Staphylococcus*, dan dari 108 galur tersebut ada 68 galur uji teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus* dengan karakteristik gram positif-coccus, katalase positif, VP positif, memfermentasi manitol dan glukosa. 68 Isolat *S. aureus* bersifat patogen berdasarkan hasil uji koagulase, nuklease thermostabil dan deoksiribonuklease (DNase). *S. aureus* dominan (62%) mengkontaminasi ikan asap Pinekuhe hasil olahan tradisional Pulau Sangihe.

Kata kunci: DNase, ikan asap, karakteristik, Pinekuhe, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Pinekuhe is the local name for smoked scad fish (*Decapterus* sp.), a traditionally processed fish product from Sangihe Islands whose taste, aroma and form are typical and unique. In this research aims of physiological and biochemical characteristics with pathogenicity isolated *S. aureus* which the isolated from the product smoked scad fish (*Decapterus russellii*) Pinekuhe it was produce and prepared by the local fisherman in Sangihe Island Regency. The isolated that have gathered from this researched was 111 product isolate from the smoke fish Pinekuhe which grown from media MSA. Its had isolated already through the test of physiological comprise, Gram staining and from the test of biochemical e.g., from the test Catalase, Voges-Proskauer, and Fermentation carbohydrate tests (Glucose and Manitol). The characteristics of pathogenicity *S. aureus* had been done and used by making of Coagulase, Nuklease Thermostabil production and deoksiribonuklease (DNase). The result of this research showing that had still 111 isolating strains that still ingroup which consists of 108 isolated *Staphylococcus* and from 108 strains to 68 strains that had been test in identifying, as of *Staphylococcus aureus* with characteristics of Gram positif coccus, catalase positif, Voges-Proskauer positif, and to Fermentation Glucose and Manitol. The 68 isolate *S. aureus* that characterize from Phatogen principles product Coagulase test, Nuklease Thermostabil and deoksiribonuklease (DNase). *S. aureus* is dominant (62%) contaminate smoked fish Pinekuhe processed traditional of Sangihe island.

Keywords: characteristics, DNase, Pinekuhe, smoked fish, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Produk ikan asap Pinekuhe merupakan salah satu produk khas yang hanya dimiliki oleh masyarakat Kabupaten Sangihe dan memiliki potensi yang dikembangkan sebagai produk andalan atau sebagai oleh-oleh dari Sangihe. Pinekuhe adalah nama lokal atau sebutan untuk produk ikan layang asap *Decapterus* sp., yang merupakan produk olahan lokal yang memiliki rasa dan aroma asap yang khas. Ikan asap tersebut disebut Pinekuhe karena bentuknya yang unik, dibentuk dengan cara ditekuk atau dilipat. Ikan asap Pinekuhe ini juga disebut ikan kodok karena bentuknya yang menyerupai kodok (Karimela *et al.* 2013).

Hasil olahan ikan mudah mengalami kemunduran mutu, sama halnya pada produk olahan Pinekuhe memiliki daya awet yang terbatas dan sering terkontaminasi oleh bakteri patogen misalnya *Staphylococcus aureus*. Kontaminasi tersebut akibat dari rendahnya sanitasi dan higienis pada saat proses pengolahan. Faktor sanitasi dan higienis dalam penanganan dan pengolahan hasil perikanan perlu diperhatikan, agar tidak memberikan peluang terjadinya kasus-kasus keracunan makanan akibat kontaminasi bakteri. Yulawati *et al.* (2005) menyatakan bahwa kontaminasi *Staphylococcus aureus* pada ikan asap sangat dipengaruhi oleh praktik hygiene selama produksi. Produk ikan asap juga rentan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Heruwati 2002). Karimela *et al.* (2013) menyatakan bahwa *Staphylococcus* merupakan bakteri yang paling dominan (80,33%) mengkontaminasi produk ikan Pinekuhe asap.

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif,

dan ketahanan terhadap antibiotik. Rahmi *et al.* (2015); Herlina *et al.* (2015) menyatakan bahwa bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi yang terjadi misalnya keracunan makanan karena *Staphylococcus*, salah satu jenis faktor virulensi yaitu *Staphylococcus enterotoxin* (Ses). Gejala keracunan makanan akibat *Staphylococcus* adalah kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang di ikuti oleh diare (Le Loir *et al.* 2003). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik fisiologis dan biokimia serta patogenitas isolat *S. aureus* yang diisolasi dari produk ikan layang (*Decapterus rusellii*) asap Pinekuhe hasil olahan Nelayan Kabupaten Sangihe.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan asap Pinekuhe. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis yaitu *manitol satl agar* (Merck), *nutrien agar* (Himedia), *brain heart infusion broth* (Himedia), *purple carbohydrate broth* (Merck), *toluidine blue-DNA agar* (Himedia), *DNase-agar* (Merck), *koagulase plasma with EDTA* (Merck), *NaCl 0,9%*, *hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%*, *akuades*, *crystal violet*, *lugol*, *safranin* (Merck). Alat yang digunakan yaitu *micropipet* (Dummo), *inkubator* (YCO-N01), *waterbath* (Nesco), *magnetic stirer* (Wina Type 206), *laminary flow* (Panasonic), *microscope* (Motic Tipe DMB01) dan *autoclave* (Midnif).

Metode Penelitian

Sampel Pinekuhe (Gambar 1) diambil dari beberapa pasar yang ada di Kabupaten Sangihe. Sampel dikemas dalam kertas steril



Gambar 1 Ikan asap Pinekuhe

serta ditempatkan dalam wadah tertutup (*box styrofoam*) tanpa perlakuan es, agar sampel tidak terkontaminasi selama transportasi ke laboratorium. Jarak tempuh pengambilan sampel hingga ke laboratorium berkisar antara 1–2 jam perjalanan. Peralatan dan media yang digunakan dalam penelitian ini telah dipersiapkan terlebih dahulu untuk memudahkan dalam hal pengujian sampel uji. Jumlah sampel setiap kali pengamatan dan pengujian berjumlah 6 ekor sampel uji. Pengamatan dan pengujian terhadap sampel ikan asap Pinekuhe hanya dilakukan terhadap daging secukupnya dan dihaluskan, lalu daging halus ditimbang 10 g untuk masing-masing pengujian.

Isolasi Bakteri

Sampel ikan asap Pinekuhe ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan ke dalam 90 mL larutan NaCl 0,9% steril dan homogenkan dengan menggunakan *blender* $\pm 3-5$ menit, kemudian diambil 1 mL suspensi yang terbentuk (tingkat pengenceran 10⁻¹) dan masukan ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan dengan cara mengocok tabung tersebut (tingkat pengenceran 10⁻²) suspensi dengan tingkat pengenceran 10⁻³ dibuat dengan cara mengambil 1 mL suspensi pada tingkat pengenceran 10⁻², lalu dimasukkan ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan dan seterusnya untuk pengenceran selanjutnya. Sampel pada setiap pengenceran diambil 1 mL suspensi dan dipindahkan ke dalam media MSA (Manitol Salt Agar) yang telah diberi label jenis sampel dan tingkat pengencerannya. Suspensi bakteri disebarkan dengan menggunakan batang penyebar gelas steril diseluruh permukaan media secara merata serta cawan petri diputar perlahan-lahan. Cawan petri dimasukan ke dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 dan 48 jam. Koloni yang tumbuh pada media MSA diambil menggunakan jarum Ose, diinokulasi ke media BHI broth, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian digoreskan kembali pada media MSA, setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri yang tumbuh diduga *S. aureus* berwarna kuning, sehingga media MSA akan berubah dari warna merah

menjadi kuning. Koloni bebas yang tumbuh pada media MSA dan diduga *Staphylococcus* dipilih dengan menggunakan jarum Ose, dipindahkan dalam media Slant Agar dilakukan dengan cara mencelup ujung jarum Ose pada bagian bawah permukaan agar miring, kemudian dengan perlahan ditarik ke ujung atas sehingga terbentuk garis siksak di tengah permukaan media SA. Simpan biakan tersebut (SA) pada suhu dingin (4°C) sebagai kultur sediaan. Isolat uji terkumpul sebanyak 111 galur untuk dilakukan uji lanjut.

Karakterisasi *S. aureus*

Kultur sediaan yang ada dilanjutkan dengan uji fisiologis, meliputi uji pewarnaan gram, dan uji biokimia meliputi katalase, Voges-Proskauer, dan fermentasi karbohidrat menggunakan metode (Prescot 2002; Cappucino dan Sherman 1992). Patogenitas *S. aureus* untuk uji koagulase dan nuklease thermostabil dilakukan menggunakan metode (BSN 2015). Uji DNase dilakukan menggunakan prinsip (Leboffe dan Pierce 2011). Kultur bakteri ditanam pada DNase agar plate, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh digenangi dengan HCl 10% selama 1-2 menit, kemudian diamati. Hasil positif bila ditemukan zona bening disekitar koloni yang menandakan *Staphylococcus aureus* dan negatif apabila tidak ditemukan zona bening di sekitar koloni yang menandakan spesies *Staphylococcus* yang lain.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari analisis laboratorium dipaparkan secara deskriptif. Hasil uji fisiologis, patogenitas dan biokimia terhadap kultur sediaan ditabulasi dan dibandingkan dengan standar identifikasi menurut kunci Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Holt *et al.* 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Fisiologis, Biokimia dan Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Karakteristik biokimia isolat *S. aureus* meliputi bentuk isolat, katalase, Voges-Proskauer, patogenitas koagulase, nuklease

Tabel 1 Hasil uji, fisiologis, biokimia dan patogenitas Isolat *S. aureus* yang diisolasi dari sampel ikan asap Pinekuhe

No	Kode galur	Bentuk	Uji Katalase	Uji VP	Fermentasi Test		Uji Patogenitas		
					Glukosa	Manitol	Koagulase Test	Nuklease Thermostabil	DNase Test
1.	**434 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
2.	**431 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	AG	A	(-)	(-)	(-)
3.	432 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(-)	(-)	(-)
4.	*424 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
5.	**433 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(+)	(-)
6.	**429 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	AW	(-)	(+)	(-)
7.	*428 _{3B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
8.	*428 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
9.	*424 _{3B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
10.	435 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
11.	**434 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(-)	(-)	(-)
12.	***434 _{3B}	<i>Rod</i>	(-)	(+)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
13.	**431 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(-)	(-)
14.	*425 _{4A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
15.	**427 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(+)	(+)	(-)
16.	**433 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(+)	(-)
17.	**430 _{2B}	<i>Coccus</i>	(-)	(-)	A	A	(-)	(+)	(-)
18.	**434 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	(-)	(-)	(+)	(-)
19.	*425 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
20.	**432 _{2A}	<i>Coccus</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
21.	*429 _{4A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
22.	**430 _{2A}	<i>Coccus</i>	(-)	(-)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
23.	*427 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
24.	**435 _{2B}	<i>Coccus</i>	(-)	(-)	A	(-)	(+)	(-)	(-)
25.	***435 _{2A}	<i>Rod</i>	(-)	(-)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
26.	**435 _{4B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(-)	(-)	(-)
27.	**428 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	(-)	(+)	(-)	(-)
28.	**425 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
29.	**428 _{4B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
30.	**429 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
31.	*439 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
32.	**443 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(+)	(-)
33.	*444 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
34.	*438 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
35.	*437 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
36.	*439 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
37.	**442 _{4B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
38.	*4394 _A	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
39.	*4362 _A	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)

40.	*438 _{3B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
41.	***436 _{2B}	<i>Rod</i>	(-)	(-)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
42.	*437 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
43.	*438 _{4A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
44.	*439 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
45.	**442 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
46.	**440 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(+)	(-)
47.	*436 _{3B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	A	(+)	(+)	(+)
48.	*441 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
49.	*438 _{3A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
50.	*440 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
51.	*439 _{3B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
52.	*438 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
53.	*446 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
54.	*446 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	A	(+)	(+)	(+)
55.	*441 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
56.	**443 _{2A}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
57.	**443 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	(-)	(-)	(-)	(-)
58.	*444 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
59.	*443 _{4B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(-)	(+)	(+)
60.	*440 _{2B}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	AG	(+)	(+)	(+)
61.	*1717 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
62.	*1735 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
63.	*1726 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
64.	*1718 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
65.	*1721 _{4a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
66.	*1723 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
67.	*1732 _{4b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
68.	*1731 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
69.	*1739 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
70.	*1738 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
71.	*1733 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
72.	*1730 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
73.	*1736 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
74.	*1727 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
75.	*1729 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
76.	*1726 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
77.	**1723 _{4a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
78.	*1724 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
79.	*1720 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
80.	**1728 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	AW	(-)	(-)	(-)
81.	**1734 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
82.	**1730 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)

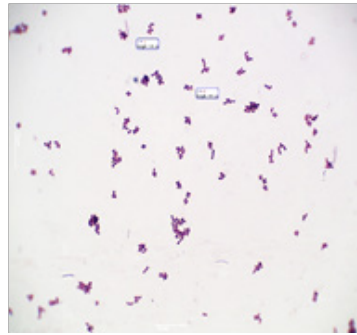
83.	**1733 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
84.	**1729 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
85.	**1731 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
86.	**1730 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
87.	**1735 _{4a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
88.	**1737 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
89.	**1740 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	AG	A	(-)	(-)	(-)
90.	**1739 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
91.	**1738 _{4a}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
92.	*1824 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
93.	*1827 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
94.	*1824 _{4a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
95.	*1829 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	A	(+)	(+)	(+)
96.	*1825 _{4b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	AG	(+)	(+)	(+)
97.	*1827 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
98.	*1835 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
99.	*1834 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
100.	*1832 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
101.	*1831 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
102.	*1838 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	AG	A	(+)	(+)	(+)
103.	*1839 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
104.	*1836 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
105.	*1837 _{4a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
106.	*1840 _{3b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
107.	*1843 _{2a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
108.	*1842 _{3a}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
109.	*1844 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(+)	A	A	(+)	(+)	(+)
110.	**1841 _{4b}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	A	A	(-)	(-)	(-)
111.	**1846 _{2b}	<i>Coccus</i>	(+)	(-)	AG	A	(-)	(-)	(-)

Keterangan: *Teridentifikasi *S. aureus*, **Dugaan spesies *S. epidermis*, ***Tidak teridentifikasi

thermostabil dan DNase (Tabel 1). Hasil karakteristik fisiologis pada uji pewarnaan gram dari 111 isolat diperoleh hasil 108 galur gram positif kokus dan 3 galur gram positif batang. Isolat dari 108 galur gram positif kokus teridentifikasi ada 68 galur uji positif *S. aureus* yang memiliki karakteristik yaitu berbentuk bulat, diameter 0,5-1,0 μm , berpasangan dan berkelompok/bergerombol seperti buah anggur (Gambar 2).

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif dengan diameter 0,5-1,0 mm, berbentuk serangkaian buah anggur, tidak membentuk spora dan tidak bergerak (BSN 2015). Foster (2008) menambahkan

bahwa *Staphylococcus* adalah bakteri berbentuk kokus, gram-positif dan memiliki diameter 0,5-1,0 mm, berkelompok, berpasangan dan kadang berantai pendek. Lay (1994) menyatakan bahwa bakteri gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri gram positif dan negatif mengakibatkan terjadinya perbedaan warna pada akhir prosedur pewarnaan gram. Dinding sel terluar bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan tebal tanpa lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida sedangkan



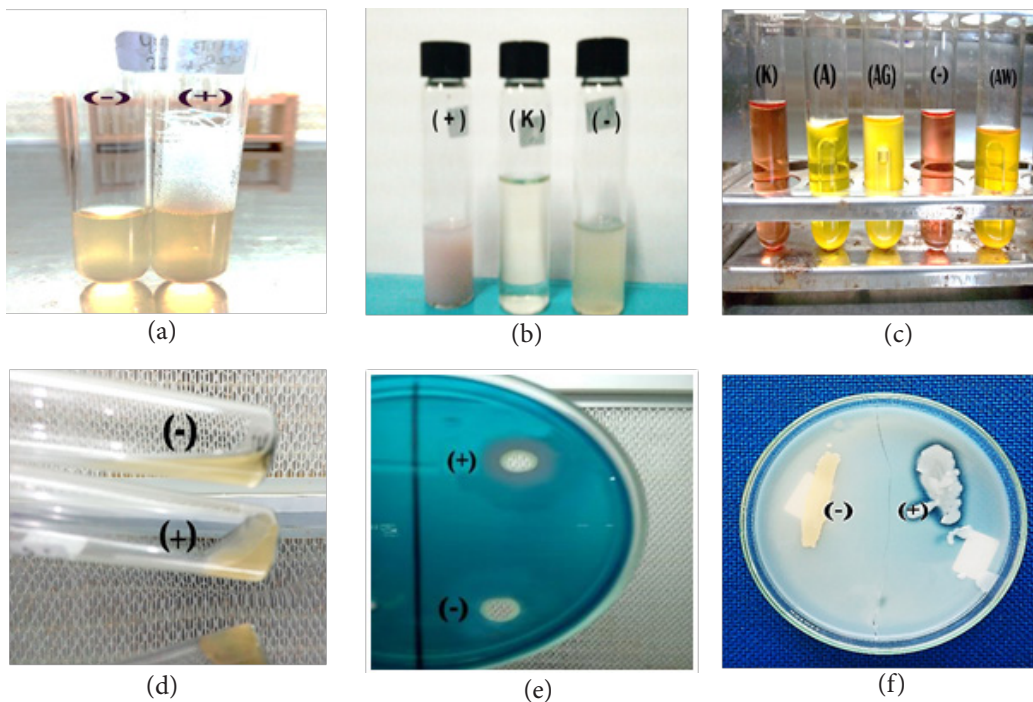
Gambar 2 Sel *Staphylococcus aureus* hasil pewarnaan Gram pembesaran lensa okuler 10x dan lensa objektif 1.000x

bakteri gram negatif memiliki dinding selnya terdiri dari peptidoglikan tipis yang dibungkus oleh lapisan lipoprotein atau lipoposakarida (Ijong 2015). Retnowati *et al.* (2011) menyatakan bahwa *S. aureus* merupakan gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal.

Katalase

Hasil pengamatan katalase yang telah dilakukan dari 111 galur uji ada 68 galur uji yang teridentifikasi sebagai *S. aureus*. Enzim katalase atau periksodase sangat berperan dalam kelangsungan hidup mikroba. Uji

ini bersifat positif pada *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya gelembung gas pada tabung (Gambar 3a). Toelle *et al.* (2014) menyatakan bahwa katalase positif ditunjukkan adanya gelembung gas (O_2) yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus*. *Staphylococcus* spp. menggunakan katalase untuk melindungi dari hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan mengubahnya menjadi air dan oksigen (Locke *et al.* 2013). Uji katalase berguna dalam identifikasi kelompok bakteri tertentu. Uji katalase pada bakteri bentuk kokus digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. Kelompok



Gambar 3 Karakteristik isolat *S. aureus*. (a) Hasil uji Katalase, (b) Hasil uji VP, (c) Hasil uji Fermentasi Karbohidrat, (d) Hasil uji Koagulase, (e) Hasil uji Nuklease thermostabil, (f) Hasil Uji DNase

Streptococcus memberi reaksi negatif, sedangkan *Staphylococcus* memberikan reaksi positif (Lay 1994).

Voges-Proskauer

Hasil uji Voges-Proskauer dari 111 isolat bahwa, ada 68 galur positif teridentifikasi sebagai bakteri *Staphylococcus aureus*, mampu menghasilkan asetoin sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah atau pink setelah 5–60 menit penambahan Barrit's reagen (Gambar 3b). Uji Voges-Proskauer bertujuan untuk mengetahui apakah suatu bakteri mampu menghasilkan asetoin atau tidak. Uji ini bertujuan untuk mendeteksi kemampuan mikroba dan menghasilkan asetoin atau diasetil pada media yang mengandung fosfat, glukosa dan pepton (Ijong 2015).

Cappucino dan Sherman (1992) menyatakan bahwa uji ini digunakan untuk mengidentifikasi organisme yang mampu menghasilkan acetoin dari pendegradasian glukosa selama fermentasi 2,3 butanadiol, sehingga menurunkan pH media menjadi 5 atau lebih. Pembentukan warna merah atau pink akan terjadi setelah penambahan Barritt's Reagen dengan pembentukan asetil metil karbinol yang menandakan uji bersifat positif.

Acetyl-methyl-carbinol adalah salah satu hasil produk pemecahan dextrose oleh enzim bakteri (Dewi 2013). Uji bersifat negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna, atau warna berubah menjadi seperti tembaga (Leboffe dan Pierce 2005). Bakteri yang mampu dalam menghasilkan asetoin atau asetil dalam media fosfat dan pepton salah satunya yaitu *S. aureus*.

Fermentasi Karbohidrat

Hasil pengamatan fermentasi karbohidrat (Manitol dan Glukosa) dari 111 galur uji terdapat 68 galur uji teridentifikasi *Staphylococcus aureus* yang dapat memfermentasi Manitol dan Glukosa (Gambar 3c). Lay (1994) menyatakan bahwa perubahan media terjadi karena bakteri mampu memfermentasi karbohidrat menghasilkan asam sehingga dapat menurunkan pH, dengan demikian warna indikator berubah. Kemampuan mikroba memfermentasikan karbohidrat sangat bervariasi dan hasil

biooksidasi dalam fermentasi karbohidrat pun bermacam-macam (Ijong 2015). Yanti dan Dali (2013) menyatakan bahwa produksi asam dari karbohidrat dapat terjadi pada kondisi aerobik maupun anaerobik. Karakteristik fermentasi karbohidrat sering dipakai untuk membedakan spesies bakteri dalam satu genus tertentu untuk tujuan identifikasi.

Koagulase

Hasil karakteristik uji Koagulase dari 111 isolat ada 68 galur uji teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus* memberikan respon koagulase positif yang membentuk gumpalan pada tabung (Gambar 3d). Andreasen 2008 menyatakan bahwa Koagulase positif umumnya dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*, namun ditemukan juga *Staphylococcus aureus* koagulase negatif. Koagulase negatif, bertindak sebagai patogen oportunistik (Yurdakul *et al.* 2013). Koagulase merupakan salah satu protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasma oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam serum. Faktor reaksi koagulase serum bereaksi dengan koagulase untuk menghasilkan esterase dan aktivitas pembekuan dengan cara yang sama, yaitu pengaktifan protrombin menjadi trombin (Jawetz *et al.* 2001). Proses fagositosis *Staphylococcus aureus* koagulase positif dapat dikurangi dengan adanya reaksi penggumpalan darah, hal ini merupakan mekanisme penghambatan yang mungkin berasal dari fibrin bagian permukaan organisme. Enzim koagulase bereaksi terhadap bentuk kompleks yang dapat membelah fibrinogen dan menyebabkan pembentukan bekuan fibrin, fibrin juga tersimpan pada permukaan *Staphylococcus aureus*, yang mampu melindungi bakteri dari kerusakan sel akibat aksi fagositosis sel. Produksi koagulase terkait dengan potensi patogenitas yang invasif (Prescott dan Langsing 1999).

Nuklease Thermostabil

Hasil uji Nuklease Thermostabil dari 111 galur uji, ada 68 galur uji teridentifikasi sebagai *S. aureus* memberikan respon Nuklease positif yang memiliki karakteristik membentuk cicin berwarna merah muda (Gambar 3e).

Nuklease adalah enzim fosfodiesterase dengan kemampuan endonukleolitik dan eks nukleolitik dan dapat memotong DNA atau RNA. Enzim ini tersusun atas rantai tunggal polipeptida, berbentuk kompak globuler, berada dalam permukaan sel, pada permukaan sel atau dekat permukaan sel *Staphylococcus aureus*. Enzim ini akan berubah strukturnya pada pemanasan 65°C, tetapi bersifat reversible, artinya strukturnya akan berubah ke bentuk semula setelah suhu turun kembali dengan cepat (Joklik *et al.* 1992). Enzim nuklease mempunyai kemampuan untuk memecah asam nukleat (Prescott dan Langsing 1999).

Uji DNase

Uji DNase digunakan untuk membedakan aktivitas mikroorganisme berdasarkan deoksiribonuklease (DNase) dan juga mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus* yang berpotensi patogen. Hasil uji ini *Staphylococcus aureus* memberikan respon positif dengan ditandai zona bening disekitar koloni. Hasil dari 111 isolat uji terdapat 68 galur yang teridentifikasi sebagai *S. aureus*, bereaksi positif yang ditandai dengan zona bening pada bakteri (Gambar 3f). Bello *et al.* (2005) menyatakan bahwa tampak daerah terang (halo) pada saat penuangan HCL disekitar koloni, ini menunjukkan bakteri menghasilkan enzim deoxyribonuclease (DNase). Bila ditemukan zona bening disekitar koloni yang menandakan *Staphylococcus aureus* dan negatif apabila tidak ditemukan zona bening disekitar koloni yang menandakan spesies *Staphylococcus* yang lain (Lagace *et al.* 2007). Kateete *et al.* (2010) menyatakan test DNase adalah untuk mengidentifikasi bakteri patogen yaitu seperti *S. aureus*, DNase memecah DNA menjadi fosfo mononukleotida. Enzim ini merupakan suatu protein yang kompak yang terdiri atas rantai polipeptida tunggal dan terdapat pada permukaan sel (Leboffe dan Pierce 2011).

Hasil uji fisiologis dan biokimia isolat uji menunjukkan bahwa dari 111 galur pada umumnya didominasi oleh bakteri Gram positif kokus ada 108 galur. Hasil penelitian ini membuktikan *S. aureus* dominan (62%) mengkontaminasi ikan asap Pinekuhe hasil

olahan tradisional Pulau Sangihe, tetapi belum ada kasus yang dilaporkan terkait keracunan atau infeksi pada masyarakat Pulau Sangihe yang diakibatkan oleh *S. aureus*. Upaya untuk menghindari cemaran *S. aureus* perlu adanya kesadaran menerapkan sanitasi dan higienis pada saat mengolah atau menjual baik dari faktor pribadi maupun faktor lingkungan untuk mencegah kontaminasi bakteri *S. aureus* yang mempengaruhi mutu dari produk Pinekuhe dan sehingga tidak menimbulkan keracunan bagi konsumen.

KESIMPULAN

Ikan asap Pinekuhe yang digunakan terdapat 111 isolat, 68 isolat yang teridentifikasi positif sebagai bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki karakteristik fisiologis yaitu Gram positif, berbentuk bulat, bergerombol, berdiameter 0,5µm - 1 µm dan non motil dan untuk karakteristik biokimia yaitu katalase positif, Voges-Proskauer positif dan memfermentasi Glukosa dan Manitol dan sedangkan untuk karakteristik patogenitasnya adalah menghasilkan koagulase positif, memproduksi Nuklease Thermostabil positif dan deoksiribonuklease (DNase) positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreasen C B. 2008. Staphylococcosis dalam Diseases of Poultry. 12th ed. Diedit oleh Saif YM, Fadly AM, McDougald, Nolan, LK, Swayne DE USA: Blackwell publishing, p 892-896.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 2332.9: Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 9. Penentuan *Staphylococcus aureus* Pada Produk Perikanan. Jakarta (ID): Badan Standar nasional.
- Bello CSS, Qahtani A. 2005. Pitfalls in the Routine Diagnosis of *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Biotechnology*. 4(1): 83-86.
- Cappucino JG, Sherman N. 1992. Microbiology, A Laboratory Manual. New York: The Benjamin/Cummings Publishing Company. p462.
- Dewi, AK. 2013. Isolation, Identification and Sensitivity test of *Staphylococcus aureus* against Amoxicillin of the Milk Sample

- in the Mastitis Crossbreed Ettawa Goat at Girimulyo Area, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(2).
- Foster, Timothy. 2008. *Staphylococcus*. Diakses melalui <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch012.htm>. Medmicro Chapter 12. [20/1/2016].
- Herlina N, Fifi A, Aditia DC, Poppy DH, Qurotunnada dan Baharuddin T. 2015. Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari susu mastitis subklinis di Tasikmalaya, Jawa Barat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(3): 413-417.
- Heruwati, E. S. 2002. Pengolahan ikan secara tradisional prospek dan pengembangan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 21(3): 92-99.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Maryland USA: Williams Wilkins. 787 hlm.
- Ijong FG, 2015. *Mikrobiologi Perikanan dan Kelautan*. Jakarta (ID): Rineka Cipta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta (ID): Salemba Medika. Edisi Pertama. pp. 317-326.
- Joklik, WK, Willett HP, Amos, DB, Wilfert CM. 1992. *Zinsser microbiology*. California. 20th. Appleton and Lange. pp. 401-413.
- Karimela EJ, Ijong FG, Agustin AG. 2013. *Staphylococcus* sp. pada ikan layang (*Decapterus russelii*) asap Pinekuhe produk khas Sangihe. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 1(2): 59.
- Kateete DP, Kimani CsN, Katabaz FA, Okeng A, Okee1 MS, Nanteza A, Joloba ML, Najjuka FC. 2010. Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. Open Access article. BioMed Central.
- Lagace-Wiens PRS, Alfa MJ, Manickam K, Karlowsky JA. 2007. Thermostable DNase Is Superior to Tube Coagulase for Direct Detection of *Staphylococcus aureus* in Positive Blood Cultures. *J. Clin Microbiol*. 45(10):3478-3479.
- Lay BW. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Jakarta (ID): Raja Grafindo Persada.
- Leboffe, Pierce. 2005. *Execises For The Microbiology Laboratory*, Pierce & Leboffe and A Pthographic Atlas for the Microbiology Laboratory. <http://www.austin.cc.tx.us/microbugs.index>. 2nd Ed.
- Leboffe, Pierce. 2011. *A Pthographic Atlas for the Microbiology Laboratory*. Morton Publishing Company. 4 th Edition. pp 207-217.
- Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. Laboratoire de Microbiologie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Institut Nationale de la Recherche Agronomique, France. [http://www.funpcrp.com.br/gmr/instruction for authors.htm](http://www.funpcrp.com.br/gmr/instruction_for_authors.htm).
- Locke T, Keat S, Walker A, Mackinnon R. 2013. *Microbiology and Infectious Diseases on The Move*. Jakarta (ID): Penerbit Indeks.
- Prescot L. M, 2002. *Mikrobiologi. The Gram Stain*. Diakses melalui <http://www.amazon.co.uk>. [12 Februari 2017].
- Prescott HK, Langsing MP, 1999. *Microbiology*. WBC, MC The Graw – Hill Companies, Inc. 4th ed. p. 771.
- Rahmi Y, Darmawi, Mahdi A, Faisal J, Fakhrurrazi, dan Yudha F. 2015. Identification of *Staphylococcus aureus* in preputium and vagina of horses (*Equus caballus*). *Journal Medika Veterinaria*. 9(2): 15-158.
- Retnowati Y, Nurhayati B, and Nona WP. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*. 6(2): 4-6.
- Toelle NN, and Viktor L. 2014. Identification and characteristics of *Staphylococcus* sp. and *Streptococcus* sp. infection of ovary in commercial layers. *Jurnal Ilmu Ternak*. 1(7): 32-37.
- Yanti DIW, Dali FA. 2013. Karakterisasi bakteri asam laktat yang di isolasi selama fermentasi bakasang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(2): 4-9.
- Yurdakul, N.E., Erginkaya, Z., and Unal, E. 2013. Antibiotic resistance of *Enterococci*, coagulase negative *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* isolated from

chicken meat. *Czech. J. Food Sci.* 31(1): 14 -19.

Yulawati S, Yusniar H, Martini, 2005. Laporan Kegiatan. Kontaminasi bakteri pada ikan asap di sentra industri pengasapan ikan dan yang dijual di pasar Kota Semarang. Semarang (ID): Universitas Depenogoro.